

БИОХИМИЯ

УДК 612.313:612.39

ИЗМЕНЕНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ СЛЮНЫ ПРИ НАРУШЕНИЯХ МИКРОБИОЦЕНОЗА КИШЕЧНИКА У ДЕТЕЙ

О.А. Точилина¹, И.А. Частоедова²

¹Лицей естественных наук, Киров

² Кировский государственный медицинский университет, Киров

Проведено исследование ферментативной активности слюны у детей раннего возраста с нарушениями микробиоценоза кишечника. Установлено коррелятивное возрастание активности ферментов слюны при нарушениях микробиоценоза кишечника у детей. Фактором риска формирования высокой ферментативной активности слюны являются нарушения питания. При восстановлении нормобиоценоза кишечника наблюдается перераспределение путей выделения гидролаз из организма, при этом ферментативные нарушения слюны сохраняются на длительный период и могут быть косвенным маркером дисфункций кишечной микроэкологии.

Ключевые слова: *амилаза, щелочная фосфатаза, слюна, нарушения микробиоценоза кишечника.*

Введение. Активный поиск неинвазивных методов диагностики патологических процессов привлекает внимание исследователей к изучению состава слюны человека в норме и при различных патологических состояниях (Мазанкова и др., 2003). Слюна является легко доступной биологической жидкостью, её белковый состав во многом идентичен сыворотке крови и физиологически связан с гомеостазом (Сухарев и др., 2008). Таким образом, слюнные железы включены в сложно регулируемую систему поддержания относительного постоянства содержания гидролаз в крови, на изменение их функционального состояния реагируют изменением состава выделяемой слюны (Кадиров, 1993).

Ферменты играют основную роль в поддержании гомеостаза организма. Из всех компонентов слюны наибольшее значение в пищеварении имеет амилаза – фермент, расщепляющий углеводы. По своим иммунохимическим свойствам и аминокислотному составу слюнная α -амилаза идентична панкреатической амилазе. Активность

амилазы детей зависит от характера вскармливания: при естественном вскармливании активность фермента ниже, чем при искусственном. Секрция слюны и активность амилазы возрастают в период введения прикорма и зависят от характера пищи. Увеличение активности слюнной амилазы отмечают при стоматитах, паркинсонизме, уменьшение – при психическом возбуждении или депрессии, при анацидном состоянии желудочной секреции (Тохунц, 2009; Шилькиева и др., 2011).

В секретах слюнных желёз здорового человека активность щелочной фосфатазы низка и её происхождение в смешанной слюне связывают с клеточными элементами. Активность этого фермента увеличивается при воспалении мягких тканей полости рта и кариесе.

Активность амилазы и щелочной фосфатазы слюны изменяется в зависимости от состояния ЖКТ и организма в целом. В настоящее время остаются малоизученными изменения состава слюны при различных патологических состояниях, протекающих латентно, таких как изменения состава и функциональной активности микрофлоры кишечника.

Цель исследования – оценка активности ферментов слюны у детей раннего возраста с нарушениями количественного и качественного состава микрофлоры кишечника.

Методика. Под наблюдением находились 25 детей раннего возраста (с 1 года до 3 лет), в анамнезе которых имели место кишечные инфекции, острые респираторные заболевания и назначение по этому поводу антибиотиков. Дети с эубиозом составили группу сравнения в количестве 25 человек - практически здоровые дети.

Оценку рациона питания проводили по среднему потреблению продуктов питания на одного ребёнка, по пищевой и энергетической ценности среднесуточного продуктового набора. При оценке содержания основных питательных веществ, витаминов и калорийности продуктов руководствовались справочником «Химический состав пищевых продуктов» под ред. Скурихина И.М., Волгарева М.Н. (1987). Полученные данные сопоставляли с нормами физиологических потребностей в пищевых веществах и энергии для детей раннего возраста (МР 2.3.1.2432-08 Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации).

Анализ кала на дисбактериоз проводился по методике Р.В. Эпштейн-Литвак и Ф.Л. Вильшанской. При обследовании детей руководствовались требованиями приказа № 231 Минздрава России от 09.06.2003 (ОСТ 91500.11.0004-2003 «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника»). Для пробиотической коррекции нами были выбраны жидкие синбиотические препараты «Бифидофлорин»,

«Лактофлорин» и сухие бактериальные препараты «Бифидумбактерин» и «Аципол». Обследованные принимали препараты по назначению врача, согласно инструкции, в возрастных дозировках.

Активность α -амилазы определялась ферментативным колориметрическим тестом с использованием 4,6-этилиден(G_7)- p -нитрофенилом(G_1)- α ,D-мальтогептозидом (этилиден- G_7 ПНФ) в качестве субстрата (реактив фирмы «Bioson»). Активность щелочной фосфатазы определяли колориметрическим тестом с использованием p -нитрофенилфосфата в качестве субстрата в глициновом буфере (Бессей, Лоури, Брок, 1946). Для определения был использован биохимический анализатор «Cobas Mira Plus» фирмы «Roche». Исследование проведено в два этапа: исходное (изучена ферментативная активность слюны) и через 2 недели после окончания приёма препаратов.

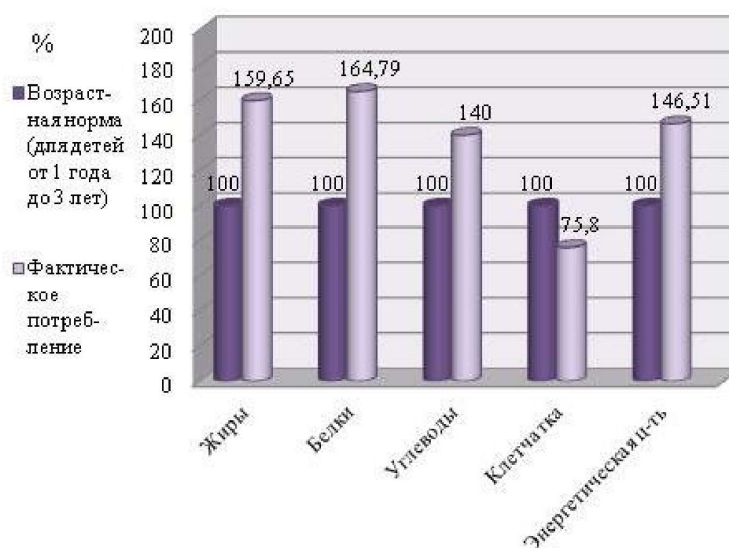
Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью статистического пакета Statistika 6.0. Критический уровень значимости (p) при проверке статистических гипотез принимался за 0,05. Проверка на нормальность распределения измеренных переменных проводилась по критерию Shapiro-Wilk. В случае нормального распределения переменных применялся параметрический метод по Стьюденту, при ненормальном распределении – непараметрический метод по Вилькоксоу.

Результаты и обсуждение. Анализ питания показал, что содержание основных нутриентов и энергетическая ценность рациона обследованных детей раннего возраста несколько превышают физиологические потребности (рис. 1). При этом наблюдается недостаток отдельных витаминов (пантотеновая кислота и биотин), пищевых волокон (рис. 2).

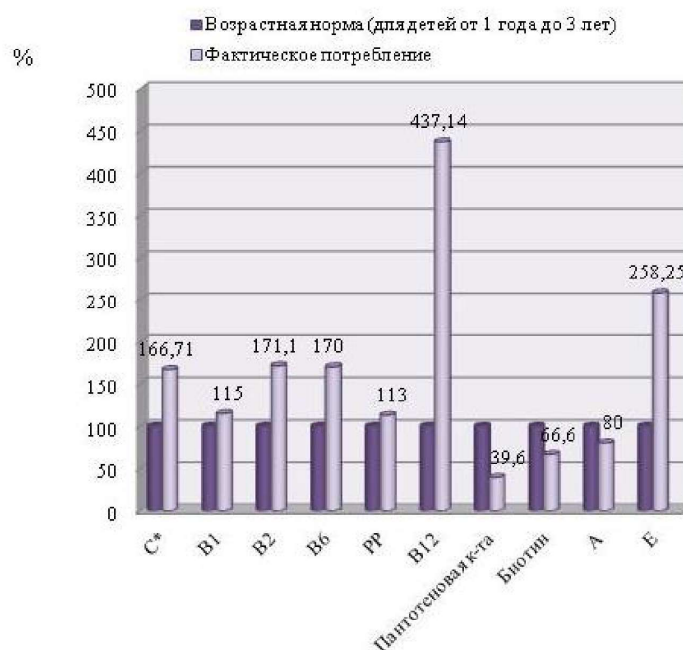
Избыточное потребление энергии и белка с одной стороны и недостаточное потребление витаминов может привести к развитию дефицитных состояний, снижению иммунного статуса, более высокой заболеваемости. При этом у 100% обследованных детей раннего возраста было выявлено нарушение микробиоценоза кишечника различной степени. Преобладающим вариантом являлся дисбактериоз II степени – у 64% обследованных, дисбактериоз I степени – у 32% и дисбактериоз III степени – у 4% обследованных детей.

У обследованных детей с нарушениями микробиоценоза кишечника мы провели исследование гидролаз слюны в динамике наблюдения за энтеральным гомеостазом ферментов. Амилолитическая активность слюны практически здоровых детей раннего ($n=25$) в пределах нормальных значений составляет $4767,0 \pm 481,8$ Ед/л, щелочной фосфатазы $13,6 \pm 5,5$ Ед/л, условно эти значения были приняты за показатели для сравнения с уровнем указанных ферментов

у обследованных детей раннего возраста с нарушениями микробиоценоза кишечника (рис. 3, 4).



Р и с . 1. Энергетическая ценность и среднее содержание нутриентов в суточном рационе обследованных детей



Р и с . 2. Среднее содержание основных витаминов в суточном рационе обследованных детей



Р и с . 3 . Активность амилазы слюны (Ед/л):

** - $p \leq 0,05$ – различия достоверны при сравнении результатов до и после пробиотической коррекции; * $p \leq 0,05$ при сравнении результатов групп



Р и с . 4 . Активность щелочной фосфатазы слюны (Ед/л)

Проведённые исследования показали, что у обследованных детей раннего возраста с нарушениями микробиоценоза кишечника ($n=25$) активность амилазы слюны $22363,6 \pm 1870,3$ Ед/л значительно выше ($p \leq 0,05$) показателей детей группы сравнения. Щелочнофосфатазная активность слюны $11,8 \pm 3,7$ Ед/л соответствовала показателям сравнения. Корреляционный анализ ферментативного спектра выявил прямую зависимость между амилазой и щелочной фосфатазой слюны ($r=0,642$, при $p=0,0005$). Коррелятивное увеличение активности ферментов слюны указывает на изменение функционального состояния организма при нарушении кишечного биоценоза. Так же отмечены межсистемные коррелятивные связи гомеостатических систем: амилаза и гемолизирующая *E. coli* ($r=-0,436$, при $p=0,029$), щелочная фосфатаза и представители условно-патогенной флоры (*Proteus*) ($r=0,43$, при $p=0,03$). Вероятно, напряжение углеводного метаболизма при нарушении микробиоценоза кишечника приводит к сопряжению работы ферментных систем и микробного

гомеостаза: появляется слабая обратная зависимость между активностью амилазы слюны и *Escherichia coli* с измененными свойствами.

Таким образом, при нарушениях микробиоценоза у детей коррелятивно возрастает активность ферментов слюны, отражая воспалительные поражения слизистой кишечника, это подтверждает непосредственную связь функционального состояния пищеварительных желез с процессами метаболизма, нарушение которых имеет особое значение в генезе любого заболевания.

После пробиотической коррекции у 64% детей раннего возраста был отмечен эубиоз, у 28% обследованных оставался дисбактериоз I степени, у 8% - дисбактериоз II степени. Но в тоже время отмечалось сохранение повышенной экскреции ферментов слюнными железами. Активность амилазы слюны оставалась достоверно высокой $15963,7 \pm 1209,7$ Ед/л ($p \leq 0,05$), при этом отмечено достоверное снижение щелочнофосфатазной активности слюны в пределах возрастных норм $10,2 \pm 1,3$ Ед/л ($p \leq 0,05$) (рисунки 3 и 4). Корреляционный анализ ферментативного спектра не выявил достоверных взаимосвязей, что свидетельствует о лабильности изучаемой системы, при этом остаётся прямая коррелятивная связь щелочной фосфатазы слюны и условно-патогенной флоры кишечника (*Proteus*, *Citrobacter*, *Enterobacter* и др.) ($r=0,41$, при $p=0,041$). Таким образом, щелочная фосфатаза может являться показателем недостаточного восстановления функциональной активности симбионтов и как следствие роста уровня условно-патогенных бактерий. Полученные результаты могут являться косвенным признаком более позднего восстановления функциональной активности микрофлоры относительно нормализации её количественного состава.

Заключение. Таким образом, дети раннего возраста с нарушениями микробиоценоза кишечника имеют высокую амилолитическую активность слюны $22363,6 \pm 1870,3$ Ед/л ($p \leq 0,05$). Факторам риска формирования высокой амилолитической активности слюны являются нарушения питания. При восстановлении нормобиоценоза кишечника наблюдается перераспределение путей выделения гидролаз из организма: на фоне постоянно высокой активности амилазы слюны $15963,7 \pm 1209,7$ Ед/л ($p \leq 0,05$), отмечено достоверное снижение щелочнофосфатазной активности в пределах возрастных норм $10,2 \pm 1,3$ Ед/л ($p \leq 0,05$). Таким образом, ферментативные нарушения слюны сохраняются на длительный период и могут быть косвенным маркером дисфункций кишечной микроэкологии. Энзимологическая оценка слюны может быть использована как неинвазивный скрининг, позволяющий получить дополнительную информацию о состоянии кишечной микрофлоры.

Список литературы

- Кадилов Ш.К.* 1993. Механизмы трансформации ферментов и пептидного спектра слюны и роль слюнных желёз в ферментном гомеостазе: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Томск. 37 с.
- Мазанкова Л.Н., Мухина Ю.Г., Шеянов Г.Г., Коркотаишвили Л.В., Курохтина И.С., Потапова Т.В., Павлушкина Л.В., Кургашова Е.К., Мамонтов П.В.* 2003. Клиническое значение исследования среднемолекулярных пептидов слюны у детей больных острыми кишечными инфекциями // *Детские инфекции.* № 3. С. 67-70.
- Сухарев Т.Н., Ермолаева Н.А., Беда В.Ю., Тегза В.Ю.* 2008. Организация иммунохимических исследований лактоферрина в слюне для оценки состояния здоровья // *Новые технологии, методы диагностики, лечения, профилактики.* № 4 (29). С. 81-84.
- Тохунец Э.К.* 2009. Активность фосфатаз в слюне при начальных формах поражения пародонта // *Медицинский вестник Эрбуни.* № 2. С. 71-75.
- Шилькиева И.А., Кондратенко Е.И., Горст Н.А.* 2011. Оценка адаптационных процессов организма по показателям ферментативной активности слюны у первоклассников // *Естественные науки.* № 3 (36). С. 142-146.

CHANGES IN THE ENZYMATIC ACTIVITY OF SALIVA IN CHILDREN WITH DISORDERS OF INTESTINAL MICROFLORA

O.A. Tochilina¹, I.A. Chastoyedova²

¹Lyceum of Natural Sciences, Kirov

²Kirov State Medical University, Kirov

We studied the enzymatic activity of saliva in infants with disorders of intestinal microflora. We found a correlative increase in the activity of saliva enzymes in such infants. A malnutrition can trigger the high enzymatic activity of saliva. After stabilization of intestinal microflora enzymatic disorders of saliva persist for a long period. This can serve as an indirect marker of disorders of intestinal microflora.

Keywords: *amylase, alkaline phosphatase, saliva, disorders of intestinal microbiocenosis.*

Об авторах:

ТОЧИЛИНА Ольга Александровна – учитель Кировского областного государственного общеобразовательного автономного учреждения «Лицей естественных наук», 610006, Киров, ул. Возрождения, д. 6, e-mail: olga.tochilina2016@yandex.ru.

ЧАСТОЕДОВА Ирина Александровна – кандидат медицинских наук, доцент, декан лечебного факультета, заведующая кафедрой нормальной физиологии, ФГБОУ ВО «Кировский государственный медицинский университет», 610998, Киров, ул. К. Маркса, 112, e-mail: lfl@kirovgma.ru.

Точилина О.А. Изменение ферментативной активности слюны при нарушениях микробиоценоза кишечника у детей / О.А. Точилина, И.А. Частодоева // Вестн. ТвГУ. Сер. Биология и экология. 2018. № 2. С. 55-62.